



几种实验动物重要疫病及其防控研究

杨松涛, 梁 萌, 王承宇, 李忠义

(军事医学科学院军事兽医研究所, 吉林省人兽共患病预防与控制重点实验室, 长春 130122)

【摘要】 本文结合作者科研工作实际和相关文献资料, 对犬、猫、猴等实验动物犬瘟热、犬细小病毒病、猫瘟热、布病、钩体病及弓形虫病等重要疫病及其防控研究进行了概述。

【关键词】 实验动物; 疫病; 防控

【中图分类号】 R332 **【文献标识码】** A **【文章编号】** 1671-7856(2011)10-11-0113-04

doi: 10.3969/j.issn.1671.7856.2011.10.11.026

Several Important Animal Diseases and Their Prevention and Control

YANG Song-tao, LIANG Meng, WANG Cheng-yu, LI Zhong-yi

(Institute of Military Veterinary, AMMS, Changchun 130062, China)

【Abstract】 Combined with the actual research of the author and related reference, this paper was an overview of important diseases, such as canine distemper, canine parvovirus, feline parvovirus, brucellosis, leptospirosis and toxoplasmosis, of dogs, cats, monkeys and other experimental animals.

【Key words】 Experimental animals; Disease; Prevention and control

1 实验动物疫病防控的重要性

动物试验/实验是生命科学研究的重要部分。疾病动物模型的建立; 发病机制探索; 生物安全评价; 食品安全评价; 药物筛选; 生物制品检定; 基因工程研究; 进出口检验检疫; 生物新技术应用等都离不开动物试验, 真实可靠的动物试验结果对研究结论具有至关重要的作用。小鼠、大鼠、豚鼠、家兔、犬、猫、猴等都是重要的实验动物, 在生命科学研究中发挥着十分重要的作用。由于实验动物多源于野生动物和家养动物, 在群体饲养或动物实验过程中容易受到易感病原感染, 造成疫病暴发或流行, 以至影响实验动物生产, 导致实验结果偏差, 甚至可能造成实验中断; 还可能污染实验材料, 威胁其它动物或人类健康。因此, 了解常用实验动物重要疫病并开展其防控研究十分必要。

2 犬、猫、猴等实验动物重要疫病及其防控研究

2.1 犬瘟热

犬瘟热是由犬瘟热病毒 (canine distemper virus, CDV) 引起的病毒性传染病。在自然条件下, CDV 能够感染犬科、鼬科、浣熊科、大熊猫科、猫科和灵长类等多种动物^[1, 2]。临床上, 主要表现为发热、脓性鼻炎、肺炎、肠炎和结膜炎, 有时出现神经症状, 后期出现中枢神经系统症状及以足垫增厚为特征。患病动物在康复后还易留有麻痹、抽搐、癫痫样发作等后遗症。该病传染性强, 发病率可达 100%, 病死率达 80%, 对犬科动物危害十分严重, 容易继发其他细菌、病毒的混合感染和二次感染。近年来, CDV 的宿主范围不断地扩大, 对犬、猫、猴等实验动物构成极大威胁^[3, 4]。

防治犬瘟热的有效途径是疫苗接种。灭活疫苗抗原性差, 且仅能诱导体液免疫, 现已少用。取

[作者简介] 杨松涛, 研究员, 博士, 主要从事动物病毒学研究。E-mail: yst610223@yahoo.com.cn。

而代之以弱毒疫苗应用获得了一定的免疫效果,但能引起免疫抑制并且在一定程度上损害中枢神经系统;且 CDV 自然感染宿主范围在不断扩大,因此,即使对犬安全的犬瘟热弱毒活疫苗,对其他动物并不一定安全,并可能致死这些动物和带来散毒的危险^[6]。军事兽医研究所成功克隆了犬瘟热病毒小熊猫株(CDV LP) N 蛋白和 F 蛋白基因全长 cDNA,分别构建了犬瘟热病毒基因疫苗表达载体 pCIN 和 pCIF,并在 MDCK 细胞中进行了表达^[5]。以含 CAV-2 SY 弱毒株全基因组的 pPoly2-CAV-2 为载体分别构建了基于 pVAX1 载体表达元件的 CDV N 蛋白重组犬 2 型腺病毒 CAV-2-pVAXLPN、F 蛋白重组犬 2 型腺病毒 CAV-2-pVAXLPF 及 CAV-2-pCILPF,免疫犬实验表明 CAV-2-pCILPF 诱导犬产生的抗体效价高于 CAV-2-pVAXLPF。将基因疫苗与 3 株重组腺病毒以不同的组合方式进行了免疫犬实验及攻毒保护实验。动物实验免疫结果表明,基因疫苗和重组腺病毒免疫动物后能引起机体产生体液免疫和细胞免疫应答^[7]。

2.2 犬细小病毒病

犬细小病毒病是由犬细小病毒(canine parvovirus, CPV)感染所引起的一种接触性传染病。犬是 CPV 的主要自然宿主,家猫对实验性 CPV 有易感性,但其临床症状并不明显。豚鼠、仓鼠以及小鼠等实验动物均不感染。犬感染 CPV 后发病较急,传染性强,对幼犬威胁尤其严重^[8,10]。病犬常表现精神沉郁,有时出现体温升高,脱水,呕吐,排出粘液状或带血的稀便。幼犬死亡率高达 30%~70%。健康犬通过直接接触病犬,摄入污染的食物、饮水或者接触食具、垫料而被感染。

用于该病预防的疫苗有灭活疫苗、弱毒疫苗、亚单位疫苗、核酸疫苗以及重组疫苗。CPV 灭活疫苗接种后,能诱导抗 CPV 的特异性免疫反应,抵抗 CPV 强毒的攻击,但其诱导的免疫反应持续时间短,血清抗体持续时间不超过 6 个月^[11,12]。军事兽医研究所于 1986 年从貉体内分离到了一株 CPV 自然弱毒(PV/貉/CC/1/86),接种犬能诱导良好的免疫反应,临床应用已有 10 多年的历史,效果良好并且安全可靠。此外,还进一步克隆了 PV/貉/CC/1/86 的 VP2 基因制备核酸疫苗,免疫接种小鼠和犬,均能诱导产生抗 CPV 的体液免疫和细胞免疫^[13]。在此基础上,构建了以 CAV-2 为

载体表达 CPV VP2 基因的重组病毒,犬免疫实验能够同时诱导机体产生抗 CPV 和 CAV-2 的特异性免疫反应。为进一步研制开发用于家犬及试验用犬的新型疫苗奠定了基础^[14]。

2.3 猫瘟热

猫瘟热是由猫泛白细胞减少症病毒(feline panleukopenia virus, FPV)引起的一种病毒性传染病。在自然条件下,FPV 能感染猫科、鼬科和浣熊科等多种动物,但以体型较小的猫科动物最为易感^[9,10]。病猫出现高热、呕吐、白细胞严重减少和肠炎等临床特征,严重的还出现血便,最后出现严重脱水,衰竭死亡。幼猫死亡率可达 90%。

目前用于 FPV 免疫预防的疫苗有灭活疫苗、弱毒疫苗及应用基因工程手段研制的基因工程亚单位疫苗、基因疫苗、活载体疫苗等新型疫苗。军事兽医研究所在毕赤酵母中表达了 FPV VP2 蛋白^[15],同时利用 CAV2 为载体制备了表达 VP2 的重组活疫苗,分别免疫小鼠和猫,均可诱导机体产生抗 FPV HI 抗体和中和抗体^[16]。

2008 年,我们从腹泻猴肠内容物中分离获得了一株病毒。序列分析表明该病毒为细小病毒,10 个关键氨基酸位点中 8 个与 FPV 相同,2 个与 CPV 相同^[17]。实验研究表明,此次从猴体分离获得的细小病毒是 FPV 的变异株。到目前为止尚无 FPV 感染猴并引起死亡的报道。与 FPV 相比,2 个关键位点氨基酸发生变化是否是决定 FPV 宿主范围发生变化并获得了跨种感染猴的能力的关键性因素;而该突变是如何发生的,在决定对猴的致病性上是否起关键作用等尚有待进一步研究^[18]。

2.4 布病

布鲁氏菌病简称“布病”,是由布鲁氏菌引起的人兽共患传染病。其常见宿主有牛、羊、猪、犬、鼠类等,该病对实验动物威胁严重。动物感染布病后,主要受侵害的是生殖器官,导致流产、不育、睾丸炎以及关节炎等。

目前用于布病预防的灭活疫苗免疫效果较差;弱毒疫苗有一定的毒副作用,并且免疫后动物与自然感染的动物不能有效进行区分,影响了布病的诊断和检疫,从而直接影响到了疫苗的广泛使用^[19]。军事兽医研究所通过构建自杀质粒,采用同源重组的方法,在疫苗株 S19 的基础上成功地构建出了分子标记、毒力基因缺失疫苗株。研究结果证明,该疫苗株具有较好的遗传稳定性,有

可识别的分子标记(利用血清学方法可区分疫苗免疫和自然感染的动物),同时缺失主要的毒力基因。该疫苗株与原疫苗株在免疫原性上差异不显著,并且毒力明显降低,从而为布病分子标记、毒力基因缺失疫苗的研究奠定了较好的基础^[20]。

2.5 钩体病

钩端螺旋体病是由致病性钩端螺旋体(*leptospira interrogans*,简称钩体)引起的一种人兽共患传染病。临床上以早期出现钩端螺旋体败血症,中期出现各器官损害和功能障碍,以及后期出现各种变态反应后发症为特点。钩体病的主要传染源为鼠、猪及其它家畜,犬类是钩体的易感动物。钩体随带菌动物的尿液排出,污染水源。一旦暴发,对鼠、犬等实验动物危害较大,严重影响试验结果的真实可靠性。

钩体疫苗分为灭活疫苗、外膜疫苗、基因工程疫苗。范泉水等拟通过对保护性抗原基因进行筛选、克隆和扩增后,进行重组钩体基因多肽疫苗或钩体蛋白亚单位疫苗的研制,并将其开发成一种安全的疫苗候选株^[21]。

2.6 弓形虫病

弓形虫病是由弓形虫引起的一种世界性分布的人兽共患寄生虫病。其终末宿主主要是猫科动物,中间宿主是人、哺乳动物、鸟类和鱼类。猫、犬、猪、羊、牛、兔等感染弓形虫的情况非常普遍,其感染率可高达 10%~50%,对实验鼠、兔、犬、猫威胁较大。感染的幼年动物明显发热、咳嗽、厌食、衰弱、流产和死亡。

迄今为止仍没有理想的防治弓形虫病药物,弓形虫疫苗的研制经历了全虫疫苗、亚单位疫苗、基因工程疫苗和核酸(DNA)疫苗等几个阶段^[22]。我国军事兽医研究所构建了弓形虫 SAG1 和 ROP2 基因的真核表达载体、卡介苗穿梭表达载体和表达 SAG1 的重组伪狂犬病病毒^[22,24]。动物试验结果表明原核表达产物、真核表达载体、重组卡介苗及重组伪狂犬病病毒均可诱导机体产生特异性的细胞免疫和体液免疫,并且 IL-18 能明显增强上述真核表达载体的免疫反应,其中重组伪狂犬病病毒在小鼠体内能达到 60% 的保护率,具有一定的应用前景。

3 结语

实验动物是研究生命科学的基础。人类探索

生命的起源,揭开遗传的奥秘,攻克癌症的堡垒,研究各种疾病与衰老的机制都必须借助于实验动物。要获得理想的研究结果,首先要有标准化的健康无病的实验动物,因此,重视并加强对实验动物重要疾病的科学防控对于确保研究人员获取真实可靠的试验数据具有十分重要的意义。

参考文献:

- [1] 胡桂学,夏咸柱,李金中,等. 大熊猫犬瘟热致死性感染的首次报道[C]. 中国微生物学会兽医微生物学学术年会论文集. 1997: 109-110.
- [2] 李金中,夏咸柱,何洪彬,等. 基因序列分析确诊大熊猫的犬瘟热病毒感染[J]. 中国兽医学报. 1999, 19(5): 448-450.
- [3] 熊焰,徐志文,王印,等. 小熊猫犬瘟热病及病原研究[J]. 动物医学进展. 2001, 22(3): 74-76.
- [4] Endo Y, Uema M, Miura R, et al. Prevalence of canine distemper virus, feline immunodeficiency virus and feline leukemia virus in captive African lions (*Pantheraleo*) in Japan [J]. *J Vet Med Sci*. 2004 Dec; 66(12): 1587-9.
- [5] 鞠会艳,乔军,高玉伟,等. 犬瘟热病毒小熊猫株核蛋白和融合蛋白基因克隆及序列分析[J]. 东北农业大学学报. 2010, 5; 112-120.
- [6] Sharon L, Lucy H, Rebecca A, et al. Canine distemper in terrestrial carnivores: a review [J]. *Journal of Zoo and Wildlife Medicine*. 2000, 31(4): 441-451.
- [7] 鞠会艳,高玉伟,杨松涛,等. 表达犬瘟热病毒融合蛋白基因重组腺病毒的构建与鉴定[J]. 东北农业大学学报. 2010, 9: 89-96.
- [8] 许树林,沈秀丽,刘鼎新. 细小病毒在肉食动物中的感染流行[J]. 黑龙江畜牧兽医 1996(10): 40-43.
- [9] Harrison TM, Mazet JK, Honekamp KE, Dubovi E, Engh AL, Nelson K, et al. Antibodies to canine and feline viruses in spotted hyenas (*Crocuta crocuta*) in the Masai Mara National Reserve. *J Wildl Dis* 2004; 40(1): 1-10.
- [10] Nettles VF, Pearson JE, Gustafson GA, Blue JL. Parvovirus infection in translocated raccoons. *J Am Vet Med Assoc* 1980; 177(9): 787-9.
- [11] Ordon JC, Rogers WA. Field evaluation of a canine parvovirus vaccination program, using feline origin modified live virus vaccine [J]. *J Am Vet Med Assoc* 1982 Jun 15; 180(12): 1429-31.
- [12] Pollock RV, Carmichael LE. Use of modified live feline panleukopenia virus vaccine to immunize dogs against canine parvovirus [J]. *Am J Vet Res* 1983 Feb; 44(2): 169-75.
- [13] 谢之景,夏咸柱,扈荣良,等. 犬细小病毒核酸疫苗的构建及其免疫小鼠检测[J]. 农业生物技术学. 2006, 4: 503-506.
- [14] 谢之景,夏咸柱,扈荣良,等. 表达犬细小病毒 VP2 蛋白重组犬 2 型腺病毒的构建及鉴定[J]. 病毒学报. 2006, 22(30): 214-219.
- [15] 杨松涛,夏咸柱,乔军,等. 虎源猫瘟热病毒 VP2 蛋白基因

- 在毕赤酵母中的表达[J]. 微生物学通报. 2006, 33(1): 29-32.
- [16] 杨松涛, 夏咸柱, 乔军, 等. 表达猫瘟热病毒 VP2 蛋白重组腺病毒的构建及其免疫原性研究[J]. 中国病毒学, 2005, (2006): 637-641.
- [17] Steinel A, Munson L, van Vuuren M, Truyen U. Genetic characterization of feline parvovirus sequences from various carnivores. *J Gen Virol*. 2000; 81(Pt 2): 345-50.
- [18] 杨松涛, 王淑君, 冯浩, 等. 猴源细小病毒的分离鉴定[C]. 中国畜牧兽医学会议论文集. 2009.
- [19] 王兴龙, 崔丽瑾. 我国动物布鲁氏菌病疫情现状及防治对策[G]. 人畜共患传染病防治研究新成果汇编. 2004.
- [20] 闫广谋, 王兴龙, 任林柱, 等. 布鲁氏菌分子标记、毒力缺失疫苗株 Δ S19-2 的构建[J]. 中国兽医学报. 2007, 5: 690-694.
- [21] 范泉水, 邱薇, 孙阳, 等. 犬型钩端螺旋体外膜蛋白基因的克隆及其表达研究[J]. 养犬. 2008.
- [22] 张瑞岩, 刘全, 商立民, 等. 抗弓形虫药物的研究进展[J]. 动物医学进展. 2010, 31(1): 95-100.
- [23] 乔军, 杨松涛, 高玉伟, 等. 弓形虫野毒株 ROP5 蛋白基因的克隆、表达及反应原性研究[C]. 中国畜牧兽医学会议论文集. 2008.
- [26] 安娜, 张瑞岩, 赵志远, 等. 弓形虫速殖子特异表达蛋白 SAG1 启动子的克隆及鉴定[J]. 中国生物制品学杂志. 2010, 23(6): 602-604.

(修回日期)2011-09-15

(上接第 126 页)

- [21] 张均田, 张庆柱, 张永祥. 神经药理学[M]: 人民卫生出版社 2008: 312.
- [22] Porsolt RD. Animal models of depression: utility for transgenic research[J]. *Rev Neurosci*, 2000, 11: 53-58.
- [23] Zerhouni E. Medicine. The NIH Roadmap[J]. *Science* (80-), 2003, 302: 63-72.
- [24] Honey K. Translating medical science around the world[J]. *J Clin Invest*, 2007, 117: 2737.
- [25] Keramaris NC, Kanakaris NK, Tzioupis C, et al. Translational research: from benchside to bedside[J]. *Injury*, 2008, 39: 643-50.
- [26] Guan JJ. Translational medical science: the medical science beneficial to patients [J]. *Basic Clin Med*, 2008, 8: 785-788.
- [27] Wehling M. Drug development in the light of translational science: shine or shade? [J]. *Drug Discov Today*, 2011.
- [28] 刘昌孝. 转换医学在新药研究开发中的应用[J]. 现代药物与临床, 2010: 321-326.
- [29] Einat H, Manji HK. Cellular plasticity cascades: genes-to-behavior pathways in animal models of bipolar disorder [J]. *Biol Psychiatry*, 2006, 59: 1160-71.
- [30] Wehling M. Assessing the translatability of drug projects: what needs to be scored to predict success? [J]. *Nat Rev Drug Discov*, 2009, 8: 541-6.
- [31] Perlis RH. Betting on biomarkers[J]. *Am J Psychiatry*, 2011, 168: 234-6.
- [32] Hocquette JF. Where are we in genomics? [J]. *J Physiol Pharmacol*, 2005, 56 Suppl 3: 37-70.
- [33] Issa AM. Personalized medicine and the practice of medicine in the 21st century[J]. *McGill J Med*, 2007, 10: 53-7.
- [34] Morabia A, Costanza MC. What is this thing called preventive medicine (II)? [J]. *Prev Med*, 2008, 47: 1-2.
- [35] Wendler A, Wehling M. The translatability of animal models for clinical development: biomarkers and disease models[J]. *Curr Opin Pharmacol*, 2010, 10: 601-6.
- [36] Rupniak NM. Animal models of depression: challenges from a drug development perspective [J]. *Behav Pharmacol*, 2003, 14: 385-90.
- [37] Lin E, Chen PS. Pharmacogenomics with antidepressants in the STAR* D study[J]. *Pharmacogenomics*, 2008, 9: 935-46.
- [38] Papakostas GI, Iosifescu DV, Renshaw PF, et al. Brain MRI white matter hyperintensities and one-carbon cycle metabolism in non-geriatric outpatients with major depressive disorder (Part II) [J]. *Psychiatry Res*, 2005, 140: 301-7.
- [39] Papakostas GI, Fava M. Predictors, moderators, and mediators (correlates) of treatment outcome in major depressive disorder [J]. *Dialogues Clin Neurosci*, 2008, 10: 439-51.
- [40] Schmidt HD, Shelton RC, Duman RS. Functional Biomarkers of Depression: Diagnosis, Treatment, and Pathophysiology. LID - 10. 1038/npp. 2011. 151 [doi] [J]. *Neuropsychopharmacology*, 2011.
- [41] Kraemer HC, Schultz SK, Arndt S. Biomarkers in psychiatry: methodological issues[J]. *Am J Geriatr Psychiatry*, 2002, 10: 653-9.

(修回日期)2011-09-15